

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Marburg/Lahn

Direktor: Prof. Dr. H. Hensel

**Adaptation von Form und Verformbarkeit
menschlicher Erythrozyten an
inkubiertes Serum**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Falko Hans-Jürgen Kronsbein

aus Bad Wildungen

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Marburg/Lahn

Direktor: Prof. Dr. H. Hensel

Adaptation von Form und Verformbarkeit menschlicher Erythrozyten an inkubiertes Serum



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Falko Hans-Jürgen Kronsbein

aus Bad Wildungen

Marburg 1976

Druck: Mauersberger, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 20.2.1976
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Prof.Dr.med. Heinrich Oepen
Referent:	Prof.Dr.med. Dieter Braasch
Correferent:	Prof.Dr.med. Hans Kaffarnik

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	Seite
	1. Bedeutung der Erythrozytenflexibilität	1
	2. Die Oberflächenspannungstheorie	2
	3. Oberflächenaktive Substanzen	2
	4. Seruminkubation und Adaptation	4
	5. Begründung der vorliegenden Arbeit	6
II.	MESSMETHODEN ZUR ERFASSUNG DER ERYTHROZYTEN-FLEXIBILITÄT	
	1. Bisher angewendete Methoden	7
	2. Beschreibung der Methode	8
III.	VERSUCHSANORDNUNG- UND -ABLAUF	
	1. Bestimmung der allgemeinen Parameter	10
	2. Blutaufbereitung zur Flexibilitätssmessung	11
	3. Zusammensetzung der 6 Versuchsproben	12
IV.	ERGEBNISSE	
	1. Vorbemerkung zur Methode	16
	2. Erythrozytenflexibilität bei gesunden Versuchspersonen	18
	3. Erythrozytenflexibilität bei Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz	24
	4. Erythrozytenflexibilität bei Patienten mit einer Diabetes mellitus-Erkrankung	26
	5. Erythrozytenflexibilität bei Diabetes mellitus-Patienten mit gleichzeitiger Hypertriglyceridämie	26
	6. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlipämikern mit isolierter Cholesterinspiegelerhöhung	30

7. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlip- ämikern mit kombinierter Cholesterin- und Triglyceriderhöhung im Plasma	31
8. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlip- ämikern ohne aktuelle Cholesterin- und Triglyceriderhöhung	31

V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

1. Erythrozytenflexibilität im Blut der untersuchten Probanden	39
2. Wirkung von inkubiertem Serum, bzw. Lysolecithin auf die Erythrozytenform und -verformbarkeit	40
3. Reaktion der Erythrozyten auf verlän- gertem Kontakt mit inkubiertem Serum, bzw. Lysolecithin	41
4. Diskussion der Befunde im Hinblick auf das Fließverhalten der Erythrozyten in der Mikrozirkulation	42

VI. ZUSAMMENFASSUNG

46

VII. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

47

VIII. LEBENS LAUF

VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRER

I. EINLEITUNG

1. Bedeutung der Erythrozytenflexibilität.

Beim gesunden Menschen haben die Kapillaren einen Durchmesser zwischen 5 und 10 μ , während der Durchmesser der Erythrozyten zwischen 7,0 und 7,8 μ beträgt. Die Kapillaren sind also teilweise kleiner als die Erythrozyten, die sich zur Passage deformieren müssen. Voraussetzung für die kapillare Blutströmung ist daher die Flexibilität der Erythrozyten, die schon von Leuwenhoek in den Schwanzgefäßen der Kaulquappe beobachtet worden ist. Moderne vitalmikroskopische Methoden haben diese Beobachtungen auch an höheren Tieren und am Menschen möglich gemacht. (Branemark, 1963; Guest, 1963; Bollinger, 1974). Da die Membran des Erythrozyten kaum dehnbar ist, kann sich der Erythrozyt jedoch nicht beliebig verformen. Quellversuche in hypotonen Lösungen zeigen, daß das Volumen des Erythrozyten bis zur Kugelform gesteigert werden kann, eine weitere Volumenzunahme jedoch zur Hämolyse führt. Formveränderungen der roten Blutkörperchen sind also nur insoweit möglich, als sie keine Vergrößerung der Oberfläche bedingen (Rand u. Burton, 1964). Der minimale Porendurchmesser, den ein flexibler Erythrozyt passieren kann, wurde 1967 von Gregersen bestimmt und beträgt 2,4 bis 3 μ . Dieser Wert, der von Gregersen auch rechnerisch aus der mittleren Oberfläche und dem mittleren Zellvolumen bestimmt worden ist, wurde von Canham und Burton (1968) auf 3,66 μ bestimmt. Zwischen diesem Minimaldurchmesser und dem mittleren Maximaldurchmesser von etwa 7,4 μ ist der Erythrozyt leicht verformbar. Braasch konnte 1963 zeigen, daß die Erythrozytenflexibilität von der Volumen-Oberflächenrelation der roten Blutzelle abhängig ist. Die Verformbarkeit nimmt zu, wenn eine große Oberfläche ein kleines Volumen umgibt. Mit dieser Feststellung bekommt die bikonkave Form der Erythrozyten rheologische Bedeutung, eine Auffassung, die im Gegensatz zur Lehrbuchmeinung steht. Danach soll sich die Erythrozytenform aus der kurzen Sauerstoffdiffusionsstrecke in der Lunge und in der Peripherie erklären. Diese These wurde von Karlson und Comroe widerlegt. Sie zeigten, daß die Geschwindigkeit der Kohlenmonoxyd- und Stickstoffmonoxydaufnahme in

menschliche Erythrozyten unabhängig von deren Durchmesser ist. Daher muß man heute die Bikonkavgestalt der roten Blutzellen eher vom Standpunkt der Mikrozirkulation diskutieren.

2. Die Oberflächenspannungstheorie.

Welche Kräfte die Bikonkavität der Erythrozyten hervorrufen, ist nicht genau bekannt. Einer von D. Braasch (Pflügers Arch. 313, 316-320, 1969) veröffentlichten Hypothese zufolge sollen sich zwei entgegengesetzte Membrankräfte in einem Wechselspiel die Waage halten:

eine Ausdehnungskraft, die eine möglichst große Oberfläche anstrebt und die Erythrozytenmembran streckt, und eine Kontraktionskraft, die für das umgebene Volumen eine möglichst kleine Oberfläche zu erreichen strebt. -

Diese Theorie, bei der die Grenzflächenspannung zwischen der Erythrozytenmembran und ihrer Umgebung eine große Rolle spielt, wurde von Murphy's Untersuchungen untermauert, der den Einbau von radioaktiv markiertem Cholesterin in die Erythrozytenmembran untersuchte. Er fand die höchsten Aktivitäten auf dem Randwall, während das Erythrozytenzentrum kaum Cholesterin einlagerte. Die daraus folgende stärkere Benetzbarkeit im Zentrum des Erythrozyten wird für die eigentümliche bikonkave Form des Erythrozyten verantwortlich gemacht.-

Die ungleiche Benetzbarkeit der Erythrozytenmembran kann durch oberflächenaktive Substanzen verändert werden. Davon handelt der folgende Abschnitt.

3. Oberflächenaktive Substanzen.

Bestimmte Substanzen, wie z.B. Galle, Lysolecithin und freie Fettsäuren können mit steigender Konzentration aus einem bikonkaven Erythrozyten über geschrumpfte und eingekerbte Zwischenformen eine kugelige rote Blutzelle bilden. Nach der Hypothese von Braasch (s.o.) reagieren diese Substanzen in der Weise mit der Membran, daß eine gleichmäßig benetzbare

Oberfläche entsteht. Das bedeutet, daß die Form des Erythrozyten nur aufgrund einer Umstrukturierung innerhalb der Zellmembran verändert wird, eine Veränderung des Zellinhaltes jedoch nicht stattfindet.

Berücksichtigt man Veränderungen des Zellinhaltes und solche der Membran und setzt beide Veränderungen zueinander in Beziehung, so ergeben sich drei verschiedene Arten von Formveränderungen der Erythrozyten, die gleichzeitig mit einer Veränderung der Verformbarkeit verbunden sind:

- 1.) Veränderungen des Zellinhaltes
(Hb-Anomalien wie Sichelzellanämie
hereditäre Sphärozytose)
- 2.) Veränderungen der Zellmembran
(Fragmentation der Membran bei ATP-Verarmung
der Zelle, z.B. Blutbanklagerung von Konserven)
- 3.) Veränderungen des Größenverhältnisses
vom Zellvolumen zur Zelloberfläche
 - a) durch Zunahme des Zellvolumens
(osmotische Quellung)
 - b) durch Abnahme der effektiv verfügbaren
Oberfläche
(durch oberflächenaktive Substanzen;
durch Lysolecithin, Galle, freie Fettsäuren).

In dieser Arbeit geht es hauptsächlich um die unter "3 b" genannten Zellen. Diese haben deswegen besondere physiologische Bedeutung, weil die Substanzen, die durch Membranamstrukturierung zur Einschränkung der Erythrozytenflexibilität führen, physiologisch im Organismus vorkommen und pathophysiologische Bedeutung haben. So wurde die Rolle der freien Fettsäuren beim Herzinfarkt von mehreren Autoren hervorgehoben (z.B. Bucher, 1974), erhöhte Konzentrationen von Galle kommen beim Verschlußikterus vor und führen zu einer eingeschränkten Erythrozytenflexibilität (Rogauch, 1971), ein erhöhter Lysolecithinspiegel ist im Rahmen des Zieve-Syndroms mit einer hämolytischen Anämie verbunden. Die Reihe derartiger, die Erythrozytenflexibilität beeinflussender Substanzen ließe sich sicherlich noch weiter

fortsetzen, bzw. bedarf noch weiterer genauer Klärung. Einige Ansätze dazu wurden in dieser Arbeit unternommen, indem die Reaktion von Erythrozyten auf den Kontakt mit den genannten Substanzen untersucht wird.

Die durch oberflächenaktive Substanzen wie z.B. Galle, freie Fettsäuren in ihrer Form veränderten Zellen lassen sich durch folgende Kriterien kennzeichnen:

- 1.) die Formveränderung der Zellen tritt sekundenschnell im Augenblick des Kontaktes von bikonkaven Erythrozyten mit den genannten Substanzen ein (Ponder)
- 2.) das Zellvolumen bleibt dabei in seiner Größe unverändert (Ponder)
- 3.) die Formveränderung ist voll reversibel, wenn die stechapfelbildende Substanz entfernt wird (Ponder)
- 4.) die Stechapfelbildung geht mit einer Verschlechterung der Verformbarkeit der roten Blutkörperchen einher (Braasch, 1972)
- 5.) sowohl Formveränderung wie Einschränkung der Flexibilität sind medikamentös rückgängig zu machen (Braasch u. Rogausch, 1972)
- 6.) sowohl Formveränderung wie Einschränkung der Flexibilität sind spontan reversibel: bei verlängertem Kontakt mit einer stechapfelbildenden Substanz adaptiert sich der Erythrozyt daran und normalisiert sowohl Form wie Verformbarkeit (Rogausch, 1972).

Im folgenden Abschnitt wird nach kurzer Beschreibung der in dieser Arbeit verwandten stechapfelbildenden Substanzen besonders auf das zuletzt unter Punkt 6 genannte Phänomen der Erythrozytenadaptation eingegangen, da es sich hierbei um ein erst in letzter Zeit bekannt gewordenes Phänomen handelt, das genauer beschrieben werden muß.

4. Seruminkubation und Adaptation.

A Plasmainkubation:

Als stechapfelbildendes Medium wurde in den folgenden Versuchen ein inkubiertes AB-Serum verwandt. Die darin wirksame Substanz

dürfte Lysolecithin sein. Dafür sprechen folgende Befunde:

- 1.) schon Bergenhem und Fahraeus entdeckten 1936 (Z.ges.exp. Med. 97, 535-571) einen hitzelabilen Faktor in inkubiertem Plasma, der bikonkave Erythrozyten zu Stechäpfeln macht
- 2.) dieser hitzelabile Faktor dürfte Lysolecithin sein, weil man durch Zufügen von Lysolecithin zu frischem Plasma in gleichen Dosen, wie es in inkubiertem Plasma vorkommt, den gleichen Effekt erhält
- 3.) bei 24-stündiger Inkubation von Serum steigt der Lysolecithingehalt um das 2-3-fache an (Hoffmann, 1972)
- 4.) die Serumveränderungen unterbleiben nach Erhitzen auf 56°C oder Verwendung von Enzymblockern. Das ist im Einklang mit der von Glomset beschriebenen LCAT-Reaktion (1968).

Aus diesen Befunden kann man schließen, daß die durch inkubiertes Serum hervorgerufene Umwandlung von bikonkaven Erythrozyten zu stechapfelförmigen Zellen im wesentlichen durch Lysolecithin hervorgerufen wird.

B Adaptation:

Werden die durch Seruminkubation bzw. Lysolecithin verformten roten Blutzellen in frischem Serum aufgeschwemmt, so erhalten sie wieder ihre normale Konfiguration. Die Erythrozytenveränderungen sind demnach voll reversibel, wenn die Zellen in ein normales Suspensionsmedium kommen. Die durch Seruminkubation gewonnenen Sphärozyten zeigen die gleichen Eigenschaften, wie die durch Galle oder freie Fettsäureeinwirkung entstandenen. In dieser Arbeit wird das Phänomen untersucht, daß auch ohne Veränderungen des Suspensionsmediums die Zellen spontan ihre Form und Verformbarkeit normalisieren können. Beläßt man die roten Blutzellen für einige Stunden im vorinkubierten Serum, so zeigt sich, daß die kugelig gewordene Zelle wieder mehr ein stechapfelförmiges Aussehen und später die bikonkave Form annimmt. Parallel zu dieser Formnormalisierung im mikroskopischen Bild geht eine Normalisierung der Flexibilität der Erythrozyten (Rogauch, 1972).

Daß dieses Phänomen auf eine Adaptation der Erythrozyten an Lysolecithin, freie Fettsäuren oder Galle zurückzuführen ist und nicht etwa auf ein Nachlassen der Toxizität des Serums,

läßt sich dadurch beweisen, daß frische, dem inkubierten Serum zugesetzte Erythrozyten wiederum eine Verringerung der Flexibilität zeigen. Die oberflächenverändernden Kräfte sind demnach in diesem Serum weiterhin vorhanden, nur haben sich die Erythrozyten, die 5 Stunden lang der toxischen Einwirkung ausgesetzt waren, an dieses inkubierte Serum adaptiert und ihre Membran wieder zur Normalform ausgedehnt.

5. Begründung der vorliegenden Arbeit.

Wenn man davon ausgeht, daß es Mikrozirkulationsstörungen in vivo gibt, die nicht nur vom Zustand der Gefäße bestimmt werden, sondern auch von der Möglichkeit der Erythrozyten sich zu verformen, dann muß man sich fragen, ob die schlechtere Erythrozytenverformbarkeit durch Plasmafaktoren, durch die Eigenschaften des Erythrozyten selbst oder durch beide bestimmt sind. Zu diesem Zweck haben wir

- 1.) das Verhalten von Erythrozyten einer gesunden Versuchsperson in verschiedenen Patientenseren untersucht.
- 2.) Um vergleichen zu können, wie Stechapfelbildung fördernde Substanzen ^{auf} die roten Blutzellen von gesunden Versuchspersonen und Patienten wirken, haben wir ein inkubiertes Serum mit konstantem Lysolecithingehalt auf die Erythrozyten verschiedener Patienten und von gesunden Versuchspersonen einwirken lassen.

II. MEßMETHODEN ZUR ERFASSUNG DER ERYTHROZYTENFLEXIBILITÄT

1. Bisher angewandte Methoden.

Die Messung der Erythrozytenflexibilität erweist sich als problematisch. Es sind verschiedene Methoden beschrieben worden. Einige Autoren haben den Einfluß der Erythrozytenflexibilität auf die Blutviskosität untersucht. Dabei fanden weiltumige Auslaufkapillaren (Braasch, 1963), Mikrokapillaren oder Rotationsviskosimeter Verwendung. Teitel (1965) untersuchte Veränderungen der Erythrozytenflexibilität, indem er Erythrozytenbrei durch fein poröse Papierfilter laufen ließ und die Zeit bestimmte, die ein definiertes Volumen zur Passage braucht. Neuerdings sind Miliporefilter in die Erforschung der Blutfließeigenschaften eingeführt worden. Das Verhalten der Erythrozyten im Gravitationsfeld wurde 1968 von Sims untersucht.

Alle erwähnten Methoden haben den Nachteil, daß der Erythrozyt zu hohen Scherkräften ausgesetzt ist, die feinere Unterschiede in der Erythrozytenflexibilität nicht aufdecken können. Da die reduzierte Flexibilität von stechapelförmigen Erythrozyten aber nur ausgeprägt im Bereich von Schubspannungen von etwa 1 dyn/cm^2 (wie sie in den postkapillären Venolen auftreten) nachzuweisen sind, war es nötig, eine besonders im Bereich niedriger Schubspannungen zuverlässig arbeitende Methode zu entwickeln. Das versuchten Braasch u. v. Oppen (1970), indem sie eine Erythrozytensuspension bei niedrigen Scherkräften zentrifugierten und den elektrischen Widerstand der sedimentierten Blutsäule bestimmten. Sie fanden vor allen Dingen bei niedrigen Beschleunigungen signifikante Unterschiede in der Flexibilität zwischen normalen Erythrozyten und solchen, deren Form durch oberflächenaktive Substanzen verändert war. Eine sehr empfindliche Methode, um auch kleinere Flexibilitätsunterschiede der roten Blutzellen zu erfassen, entwickelten Braasch und Rogausch. Sie konstruierten eine Spezialzentrifuge, in der nicht indirekt der elektrische Widerstand der sedimentierten Erythrozyten, sondern direkt die Wanderungsgeschwindig-

keit der roten Zellen in Gravitationsfeldern zwischen 5 und 35 g als Maß für die Erythrozytenflexibilität genommen wurde. Dabei fiel die Wanderungsgeschwindigkeit der Erythrozyten stark ab, nachdem die Zellen entweder mit Galle oder mit vorinkubiertem Plasma zu runden bzw. stechapfelförmigen Gebilden umgewandelt worden waren. Die Erklärung liegt darin, daß normale Erythrozyten selbst bei diesen geringen Beschleunigungen ein strömungsgerechtes Profil annehmen, während stechapfelförmige Erythrozyten aufgrund der Kugelgestalt einen höheren Strömungswiderstand bieten. Diese Methode wurde in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung der Erythrozytenflexibilität angewandt.

2. Beschreibung der Methode.

Um zu erreichen, daß die Erythrozyten über eine möglichst lange Strecke wandern können, ohne Aggregate zu bilden, wurde eine selbstgebaute Zentrifuge mit einem Durchmesser von 2,6 m verwendet. Die Zentrifuge dreht sich in der Vertikalebene, so daß beide Gravitationsfelder, die Erdbeschleunigung und die Zentrifugalbeschleunigung in einer Ebene liegen. Das ist für den Meßvorgang, der sich nach einigen Minuten Zentrifugationszeit in einer zellfreien Zone darstellt, wichtig.

Die Zentrifugalbeschleunigung der obersten in der Blutsäule wandernden Erythrozytenschicht beträgt:

$$a = \frac{v^2}{r} \quad v = \frac{2\pi \times r}{t} \quad t = \frac{1}{U} .$$

$$a = 4 \pi^2 \times r \times U^2 ,$$

wobei $r = 1,3 \text{ m} - 0,5 \text{ m} = 0,8 \text{ m}$ und $U = 3,3 \text{ Umdrehungen/sec}$ ist. a ist also gleich 347 m/sec^2 das ist ungefähr $= 35 \text{ g}$.

Da die Röhrchen bis zur Oberkante gefüllt sind, ist der Abstand der Erythrozyten vom Kreismittelpunkt 80 cm; die Umdrehungszahl der Zentrifuge beträgt 6000 in einer halben Stunde. Die Zentrifugalbeschleunigung, die auf die oberste Erythrozytenschicht wirkt, beträgt daher ungefähr das 35-fache der Erdbeschleunigung. Bei dieser Methode wandern die roten Blutzellen im Gravitations-

feld über eine Strecke von ungefähr 100 mm ohne zusammengepackt zu werden. In dieser Wanderungsstrecke bleibt die Wanderungsgeschwindigkeit konstant. Der Fließwiderstand der Erythrozyten hängt nur von der Größe, der Dichte und der Fähigkeit der Zellen, eine möglichst strömungsgünstige Form zu bilden, ab. Eine flexible rote Blutzelle wird eine strömungsgünstige ellipsoide Form annehmen, während eine sphärische, weniger flexible Zelle ihre hydrodynamisch ungünstige Form beibehält.

In einem Schleudervorgang konnte man 10 Röhrchen gleichzeitig bearbeiten. Es zeigt sich eine gut ablesbare horizontale Grenzfläche. Alle Untersuchungen wurden bei einer Raumtemperatur von 37°C durchgeführt.

Tabelle 1:

Meßparameter	Einheit	Methode
Hämoglobingehalt (Hb)	g/100 ml	Zyan.Hb.
Erythrozytenzahl (EZ)	Mill/mm ³	Coulter-Counter
Erythrozyten-einzelvolumen (EV)	μ^3	Coulter-Counter
Hämatokrit (HKT)	%	Mikrohämatokrit
Hämoglobingehalt des Einzelerythrozyten (Hb _E)	γγ	$Hb_E = \frac{g\% Hb \cdot 10}{EZ}$
Dichte der Erythrozyten	g/cm ³	Dichtegradient mit Phthalatestern nach Danon (1964)
Erythrozytenflexibilität	Relativeinheiten	low-g-centrifugation nach Braasch (1971)

III. VERSUCHSANORDNUNG UND -ABLAUF

1. Bestimmung der allgemeinen Parameter.

Unter sterilen Bedingungen wurde Blut aus der Vena cubiti entnommen und mit Hilfe eines Glasstäbchens in einem Reagenzglas durch ungefähr 4-minütiges Rühren gründlich defibriniert. An allgemeinen erythrozytären Messungen wurde zuerst der Hämatokrit, das Gesamthämoglobin, die Erythrozytenzahl, das Erythrozytenvolumen und der Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten bestimmt (Tab.1). Diese Messungen dienten zur allgemeinen Klassifizierung des Erythrozyten. Da die Wanderungsgeschwindigkeit des Erythrozyten im Gravitationsfeld neben der Flexibilität auch von der Dichte der roten Blutzelle abhängt, wurde aus den obengenannten Parametern ein Dichtequotient D bestimmt. Da sich dieser Dichtequotient aus der Hämoglobinmasse des Einzelerythrozyten dividiert durch das Volumen des Einzelerythrozyten berechnet wird, gibt er nicht die Dichte der einzelnen roten Blutzelle an, sondern ist ihr nur annähernd proportional. Neben dem Hauptbestandteil Hämoglobin besteht der Erythrozyt aus Lipiden, Salzen und Wasser. Der hier benutzte Dichtequotient bezieht sich nur auf den Hämoglobingehalt. Als Meßgerät diente zur Bestimmung der obengenannten Größen ein Coulter-Counter-Modell FN. Außerdem wurde die Dichte der Erythrozyten mit der Phthalatester-Methode nach Danon (1964) bestimmt.

Bei den Patienten mit der Hyperlipidämie wurden die Triglyzeride enzymatisch gemessen und das Serum-Cholesterin mit Hilfe der Farbreaktion nach Liebermann-Burchard untersucht. Die Diabetes-mellitus-Patienten wurden noch vor der Blutentnahme zur Nüchtern-Blutzuckerbestimmung gebracht. Kreatinin, Harnstoff und Harnsäurespiegel wurden bei den Fällen mit einer akuten Niereninsuffizienz als Parameter mit gemessen.

2. Blutaufbereitung zur Flexibilitätsmessung.

Das defibrinierte Blut wurde dann zur weiteren Aufarbeitung 15 Minuten lang bei 3000 RPM zentrifugiert; das vorsichtig mit einer Insulinspritze angeheberte Serum wurde mit einer auf pH 7,4 eingestellten gepufferten Ringerlösung im Verhältnis 1:9 verdünnt. Der bei der Zentrifugierung entstandene Buffy-coat wurde mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt; die Leukozyten und Thrombozyten wurden verworfen. Die Erythrozyten wurden im Verhältnis Serum zu Erythrozyten = 3:1 resuspendiert, so daß ein Hämatokrit von ungefähr 30 bis 33 % entstand.

Zur Bestimmung des Erythrozytengehaltes einer Versuchsprobe wurde nicht der Hämatokrit, sondern die Hämoglobinemessung benutzt, da die Mikro-Hämatokritbestimmung zu sehr von dem Ausmaß des "plasma-trappings" abhängt. Mit der Zyanhämoglobinemethode wurde die Extinktion im Eppendorf-Fotometer gemessen. Der Extinktionsnormalwert lag bei dem benutzten Filter der Wellenlänge = 546 nm bei 0,340 E.

Der Hämoglobingehalt einer Versuchslösung ist nicht immer genau auf den errechneten Hb-Wert, der einem Hk von 33 % entspricht, einzustellen. Zum mathematischen Ausgleich in den verschiedenen Versuchsansätzen benötigt man daher einen Korrektionsfaktor. Untersuchungen von Braasch und Rogausch (1970) zeigten, daß die Wanderungsgeschwindigkeit mit steigendem Hämatokritwert abnimmt. Eine Änderung des Hämatokritwertes um 1 % entspricht einer Extinktionsänderung von 10 Einheiten und einer Änderung der Wanderungsstrecke um 4 mm. Das heißt eine Zunahme oder Abnahme des Hämatokrits um 1 % bewirkt eine Zunahme oder Abnahme der Wanderungsgeschwindigkeit um 4 mm in 30 Minuten. Innerhalb der Schwankungsbreite des Hämatokrits von etwa ± 5 % hat sich der Korrektionsfaktor als brauchbar erwiesen.

3. Zusammensetzung der 6 Versuchsproben.

Sämtliche Ansätze hatten den gleichen Hämatokrit von ungefähr 33 %; wie oben angegeben, wurden die Erythrozyten zur Bestimmung

der Wanderungsgeschwindigkeit^m der low-g-value-Zentrifuge in einer Serum-Ringerverdünnung von 1:9 im Verhältnis 1:3 resuspendiert.

Probe A1:

Die Erythrozyten einer Versuchsperson befinden sich hier im eigenen Serum. Dieser Ausgangsversuch mißt die Wanderungsgeschwindigkeit der roten Blutzelle im eigenen Serum und kann damit als Vergleichswert zu den Versuchen unter geänderten Bedingungen dienen. Außerdem kann man die Ausgangsgeschwindigkeiten der verschiedenen Versuchspersonengruppen miteinander vergleichen. Änderungen der Flexibilität bei den verschiedenen Krankheitsbildern finden hier ihren Ausdruck.

Probe A2:

Die Ringerlösung wird mit injizierbarem Megaphen versetzt, so daß eine 0,25 g%ige Megaphenlösung entsteht. Die weitere Zusammensetzung der getesteten Blutprobe ist wie im Ansatz A1. In diesem Versuch wird der Einfluß einer oberflächenaktiven Substanz, die Erythrozytenmembranen zu strecken vermag, untersucht. Wie auf Seite 4 erwähnt wurde, läßt sich die eingeschränkte Flexibilität stechapfelförmiger Erythrozyten medikamentös wieder normalisieren. Im Tierversuch ist hierzu von Braasch und Rogausch (1971) das Neuroleptikum Chlorpromazin (Megaphen R) als brauchbar gefunden worden. Die Wirkung des Chlorpromazins beruht wahrscheinlich auf einer Streckung der geschrumpften Membran von stechapfelförmigen Erythrozyten, wie Untersuchungen von Kwant und Seeman (1969) gezeigt haben. Durch (Über-)Dehnung der Membran werden normal bikonkav konfigurierte Erythrozyten tassenförmig und haben eine kleinere Wanderungsgeschwindigkeit in der low-g-centrifuge. Die Verminderung dieser Wanderungsgeschwindigkeit wird um so geringer sein, je stärker geschrumpft der Erythrozyt vorher war. Mit anderen Worten, ein rheologisch optimaler Erythrozyt wird im Megaphenansatz deutlich langsamer wandern; eine eher geschrumpfte, leicht stechapfelförmige rote Blutzelle wird im Megaphenansatz gedehnt und deshalb einen nicht so großen Fließwiderstand bieten.

Probe B1:

Für diese Versuchsreihe wurde ein Standardserum angefertigt. Um die Gefahr von Agglutinationsphänomenen zu verringern, wurde das Serum eines Spenders der Blutgruppe AB benutzt. Dieses AB-Serum wurde durch 5-stündiges Inkubieren im Wasserbad bei einer Temperatur von 37°C aufbereitet und danach auf 56°C erhitzt. Damit hat das Serum durch seinen erhöhten Lysolecithingehalt Eigenschaften gewonnen, die die Erythrozytenflexibilität vermindern. Die Wanderungsgeschwindigkeit in der low-g-Zentrifuge wird in diesem Versuch daher auch erwartungsgemäß niedrig sein. Agglutination wurde durch mikroskopische Kontrolle ausgeschlossen.

Die Eigenschaft des inkubierten Serums wirkt über die Erythrozytenmembran. Die Membran schrumpft und führt so zu einer stechapfelförmigen Zelle. Zur Charakterisierung des Ausmaßes der Erythrozytendeformierung wurde in allen Untersuchungen in Anlehnung an Ponder folgende Stadieneinteilung benutzt:

- Stadium 1: bikonkave, polygonale Erythrozyten
- Stadium 2: flache, stechapfelförmige Erythrozyten
- Stadium 3: sphärische, stechapfelförmige Erythrozyten
- Stadium 4: sphärische, glatte Erythrozyten.

Dies wurde stichprobenweise mit dem Lichtmikroskop bei den einzelnen Versuchen beobachtet.

Nach der Ponderschen Stadieneinteilung kann die Schrumpfung des Erythrozyten bis zur Kugelform führen. Wirken dann noch weiterhin membranstraffende Kräfte auf den Erythrozyten ein, so kommt es zur Hämolyse. Die in diesem Versuch durch die Plasmainkubation gewonnene Erythrozytenschrumpfungseigenschaft ist nicht so groß, als daß sie zur Hämolyse führt.

Probe B2:

Ich habe mit diesem Test den Versuch gemacht, die Adaptation der roten Blutzelle an das inkubierte, 56°C erhitzte AB-Serum zu überprüfen. Fünf Stunden lang wurde der oben bei B1 benannte Ansatz bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Die roten Blutzellen, die fünf Stunden lang dem inkubierten, lysolecithinhaltigen Serum ausgesetzt waren, haben sich in ihrer Fließgeschwindigkeit nicht etwa verschlechtert, sondern verbessert.

Probe C1:

In dem gleichen Serum wie im Versuch A1 wurden hier Standarderythrozyten suspendiert. Um eine Agglutination wie in den Versuchen der B-Reihe auszuschließen, wurden nichtagglutinable Erythrozyten der Blutgruppe O verwendet. Agglutination wurde durch mikroskopische Kontrolle ausgeschlossen.

In dieser Versuchsreihe kann beobachtet werden, wie sich ein Standarderythrozyt einer gesunden Versuchsperson in den Seren der verschiedenen Patienten verhält. Wenn das Serum auf die Fließfähigkeit der roten Blutzelle keinen größeren Einfluß ausübt, so würde sich daraus ergeben, daß die Fließgeschwindigkeit bei allen Patientengruppen und beim Normalkollektiv in etwa gleich wären. Spielen aber Serumfaktoren in bezug auf die Erythrozytenflexibilität eine Rolle, so müßte sich dies in unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten manifestieren.

Dieser Versuch ist wie die übrigen in der gleichen zeitlichen Folge ausgeführt worden. Das bedeutet, daß die Erythrozyten bis zum Beginn des Meßvorganges nur etwa 20 bis 30 Minuten mit dem Serum Kontakt hatten. Es konnten daher hiermit nur schnell wirkende Faktoren bemerkt werden. Falls also ein Serumfaktor eine längere Zeit braucht, um die Erythrozytenflexibilität zu ändern, so konnte dieser hiermit nicht erfaßt werden.

Probe C2:

Die Eigenschaften, die wir im Versuch B1 anhand eines standardisierten AB-Serums überprüft hatten, werden in dieser Versuchsreihe am Patientenserum überprüft. Im Unterschied zum Versuch B1 werden hier die Standarderythrozyten der Blutgruppe O einem fünf Stunden lang im Wasserbad bei 37°C inkubierten und daher stark lysolecithinhaltigen Serum ausgesetzt. Während im Versuch B1 die "toxischen" Eigenschaften, d.h. die Lysolecithinwirkung eines Fremdserums gemessen worden sind, wurde hier, in C2, die "Toxizität" des eigenen Serums mit Hilfe von Testerythrozyten bestimmt.

Wenn eine rote Blutzelle in diesem Versuch im Vergleich zu anderen einen besonders hohen Fließwiderstand zeigt, so weist das darauf hin, daß in diesem Serum während der Inkubation besonders viel Lysolecithin frei geworden ist.

In folgender Übersicht wird die Zusammenstellung der einzelnen Proben zusammenfassend dargestellt:

A1 = PE + PSf
A2 = PE + PSf + Megaphen
B1 = PE + ABSi
B2 = (PE + ABSi) i
C1 = OE + PSf
C2 = OE + PSi

Erklärung:

PE = Patientenerythrozyten
OE = Spendererythrozyten der Blutgruppe 0
PS = Patientenserum
ABSi= Standardserum ~~AB~~ AB inkubiert
f = frisch
i = nach 5-stündiger Inkubation.

IV. ERGEBNISSE

1. Allgemeine Vorbemerkung zum Aufbau der Arbeit und zur Methode:

Sechs Versuchsgruppen wurden unterschieden.

1. Blut gesunder Versuchspersonen als Vergleichsgruppe
2. Blut zuckerkranker Patienten
3. Blut chronisch Niereninsuffizienter
4. Blut von Hypercholesterinämikern
5. Blut von Hyperlipidämikern mit Triglycerid- und Cholesterinerhöhung
6. Blut von Patienten, bei denen eine Hyperlipidämie diagnostiziert wurde, während der Untersuchung jedoch keine aktuelle Blutfetterhöhung festgestellt wurde.

In jeder der Gruppen 1 - 6 wurden die Versuche A1 bis C2 angesetzt. Die Versuchsbedingungen waren jeweils konstant. In den Tabellen 2 - 8 sind neben allgemeinen Daten der Erythrozyten, die Absolutwerte der Fließgeschwindigkeiten im Gravitationsfeld eingetragen. Die Mittelwerte der Laufgeschwindigkeiten der 6 Versuchsgruppen sind in der Tabelle 9 zusammengefaßt.

Tabelle 10 gibt die relativen Geschwindigkeiten an. Der jeweilige Wert im Versuch A1 wurde gleich 100 % gesetzt und die Versuche A2 bis C1 darauf bezogen. Da im Versuch C2 die Fließgeschwindigkeit fremder Erythrozyten im inkubierten Patientenplasma gemessen wird, ist die Bezugsgröße für diesen Versuch die Laufgeschwindigkeit der gleichen Erythrozyten im Versuch C1. Die unter C2 in Tabelle 10 angegebene Zahl gibt daher an, wieviel % der Laufgeschwindigkeit in C1 die Standardzellen im inkubierten Patientenplasma erreichen.

Um den Einfluß der Dichte auf die Wanderungsgeschwindigkeit kontrollieren zu können, wurde für jede einzelne Erythrozytenpopulation ein relativer Dichtequotient errechnet. Dabei zeigte sich, daß die relative Dichte des Hämoglobins über sämtliche

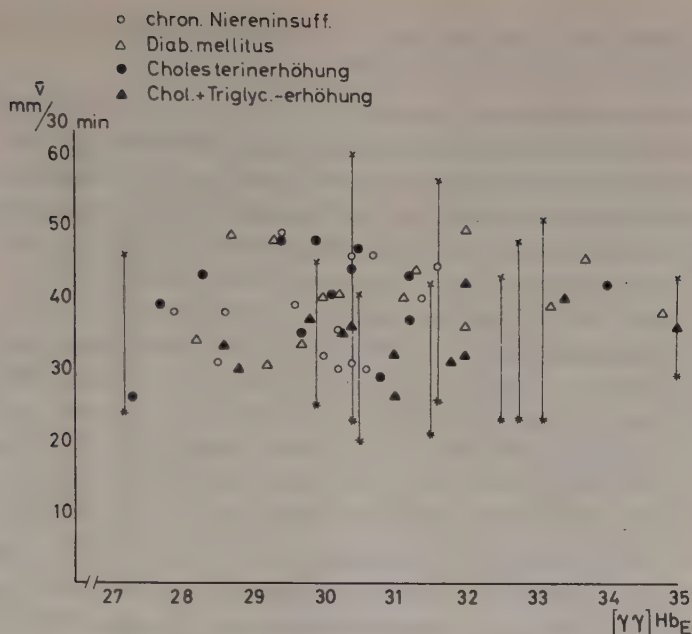


Abb. 1. Graphische Darstellung der Fließgeschwindigkeiten der verschiedenen Erythrozytenpopulationen in Abhängigkeit von dem gemessenen Hämoglobingehalt der Einzelerthrozyten.

Aus der Abbildung geht hervor, daß keine direkte Proportionalität zwischen dem Hb_E und dem Fließverhalten der Erythrozyten besteht.

x = Erythrozyten gesunder Probanden im frisch belassenen Serum

* = die gleichen Erythrozyten in 5-stündig vorinkubiertem Serum.

Der Kontakt der roten Zellen mit durch die Inkubation freigesetztem Lysolecithin führt ohne jede Änderung des Hb_E zu einer Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit (ersichtlich an den senkrechten Strichen).

Versuche gemittelt, um den Wert 0,318 g pro ccm schwankt bei einer Standardabweichung von 0,008.

Bei den hier referierten Versuchen zeigte sich, daß die Dichte der roten Blutzellen nicht wesentlich die Wanderungsgeschwindigkeit beeinflußt, sondern daß die Änderungen der strömungsmechanischen Eigenschaften der Erythrozyten einen ausschlaggebenderen Einfluß auf die Wanderungsgeschwindigkeit haben, als die Schwankungen der Erythrozytendichte, denn:

- 1.) Die roten Blutzellen der niereninsuffizienten Patienten mit der geringsten relativen Dichte von 0,305 g/ccm Hämoglobin haben in den Versuchen der Reihe A1 eine relativ hohe Wanderungsgeschwindigkeit von 40,5 E. Bei den Hypertriglyceridämikern weisen die roten Blutzellen, die eine hohe relative Dichte von 0,321 g/ccm Hämoglobin haben, die geringste Wanderungsgeschwindigkeit von 34,2 E auf (Abb. 1).
- 2.) Durch den Einfluß von Substanzen wie Lysolecithin, freie Fettsäuren oder Galle werden bikonkave Erythrozyten ohne jegliche Dichte oder Volumenänderung in stechapfelförmige Gebilde umgewandelt. Sie führen im Kapillarviskosimeter aufgrund ihres ungünstigen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses, d.h. aufgrund ihrer schlechteren strömungsmechanischen Eigenschaften zur Erhöhung der Viskosität der Blutprobe. In der low-g-value-Zentrifuge weisen sie eine um mehr als 50 % reduzierte Wanderungsgeschwindigkeit auf (Abb. 1). Der Einfluß der Dichte der Erythrozyten auf die Wanderungsgeschwindigkeit in der low-g-value-Zentrifuge kann daher in den folgenden Versuchen als nicht ausschlaggebend angesehen werden. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist ein Maß für die strömungsmechanische Anpassungsfähigkeit der Erythrozyten, d.h. ein Maß für die Erythrozytenflexibilität.

2. Erythrozytenflexibilität bei gesunden Versuchspersonen.

Die Wanderungsgeschwindigkeit der Erythrozyten in der low-g-value Zentrifuge wurde an 10 gesunden weiblichen und männlichen Versuchspersonen im Alter von 18 bis 46 Jahren untersucht. Die Absolutwerte der Fließgeschwindigkeiten sind aus Tabelle 2, der Mittelwerte aus Abb. 2 ersichtlich.

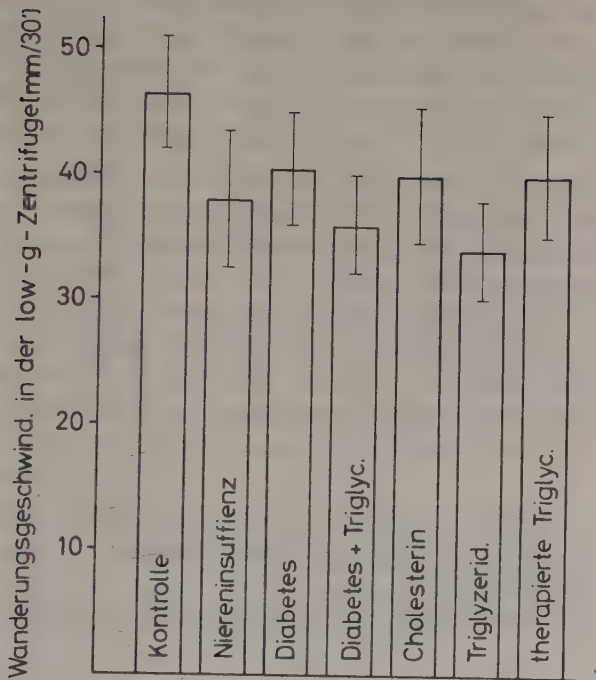


Abb. 2. Ausgangswerte der Erythrozytenflexibilität bei den einzelnen Versuchspersonenkollektiven (Test A1 Erythrozyten im autologen Serum).

Tabelle 2. Erythrozyten und Serum gesunder Versuchspersonen.

N	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	56,5	48	26	40	40	11
2	46	47	24	37	39	8
3	32	28	21	38	41	7
4	60	34	23	32	37	24
5	43	36	29,5	35	46	31
6	48	47	23	42	47	49
7	43	29	23	44	54	49
8	45	19	25	48	43	20
9	41	33	20	32	49	29
10	51	38	23	37	56	52
$\bar{x}$	46,6	35,9	23,8	38,5	45,2	28
SD	4,5	9,45	2,10	5,13	6,38	17,25

N = Nummer des Versuchs der jeweiligen Versuchsgruppe

A1 bis C2 siehe Texterläuterungen

$\bar{x}$ = Mittelwert

SD = Standardabweichung (standard deviation)

Werden die Erythrozyten im autologen Serum untersucht (Probe A1), so haben sie im mikroskopischen Bild eine bikonkave Form und in der Zentrifuge eine Wanderungsgeschwindigkeit von $46,6 \pm 4,5$ E. Diese beiden Eigenschaften ändern sich schlagartig, wenn die Zellen in Kontakt mit Lysolecithin (durch Seruminkubation gewonnen) kommen (Probe B1): ihre Form wird im Augenblick des Kontaktes mit dieser Substanz stechapfelförmig und ihre Wanderungsgeschwindigkeit geht auf 24 ± 2 E zurück. Der Unterschied im Fließverhalten ist hoch signifikant ($p = 0.001$) (Abb. 3).

Beläßt man die stechapfelförmigen Erythrozyten für 5 Stunden bei 37°C in dem lysolecithinhaltigen Serum, dann stellt man fest, daß sich sowohl Form wie Wanderungsgeschwindigkeit der Erythrozyten weitgehend normalisiert haben: im mikroskopischen Bild fehlen Stechapfelformen fast ganz, man sieht vorwiegend das Stadium 1 nach Ponder und normal bikonkave Zellen, man mißt eine Wanderungsgeschwindigkeit von 38.5 ± 5.1 E. Damit ist nach 5-stündigem Kontakt mit dem lysolecithinhaltigen Serum die Wanderungsgeschwindigkeit nicht mehr signifikant vom Kontrollwert verschieden (Abb. 3).

Der Zeitraum von 5 Stunden, in dem diese Normalisierung von Erythrozytenform und -verformbarkeit beobachtet worden ist, wurde aufgrund von Vorversuchen als geeignet gefunden (Rogausch, 1974). Abb. 4 zeigt ein Beispiel eines solchen Vorversuches. Hier befinden sich Erythrozyten in Kontakt mit 40 mg/100 ml Lysolecithin, das frischem Serum hinzugefügt wurde. Ihr Fließverhalten wurde im Kapillarviskosimeter bei 37°C bei konstanter Schubspannung $\tau_w = \frac{4 P \cdot D}{L}$ von $1,25 \text{ dyn/cm}^2$ kontinuierlich über einen Zeitraum von 5 Stunden gemessen. Man sieht, daß sich die Fließeigenschaften nach etwa 3 Stunden asymptotisch dem Kontrollwert angenähert haben. Da bei der low-g-value-Zentrifugation aus methodischen Gründen eine kontinuierliche Messung nicht möglich war, schien es sinnvoll, den Grad der Normalisierung der Erythrozytenflexibilität nach 5 Stunden, also im asymptotischen Bereich der Kurve von Abb. 4, zu bestimmen. Zu diesem Zeitpunkt stimmen beide Methoden darin überein, daß sich das Fließverhalten der Erythrozyten wieder spontan normalisiert hat.

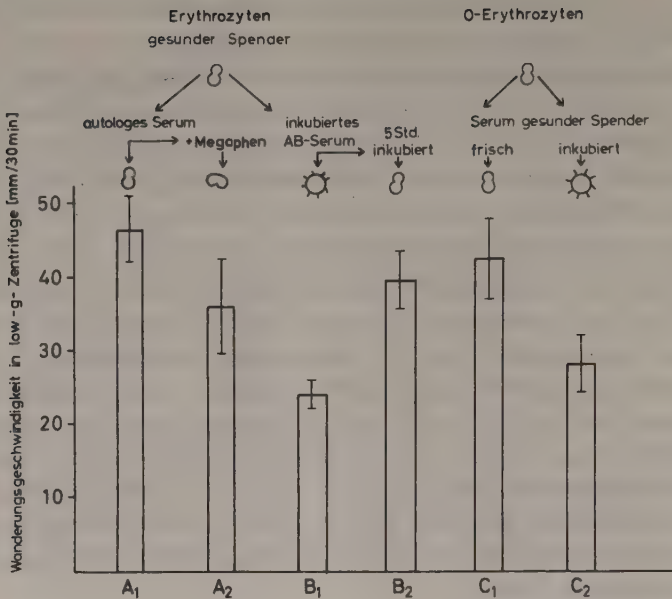


Abb. 3. Untersucht wurden 10 Blutproben gesunder Spender. Die Flexibilität ihrer Erythrozyten im autologen Serum (Test A1) nimmt schlagartig ab, wenn sie in ein lysolecithinhaltiges Medium kommen (Test B1). Verbleiben die Erythrozyten längere Zeit in diesem lysolecithinhaltigen Serum, so normalisiert sich die Flexibilität wieder weitgehend (Test B2). Zu den Proben A2, C1 und C2 siehe Text.

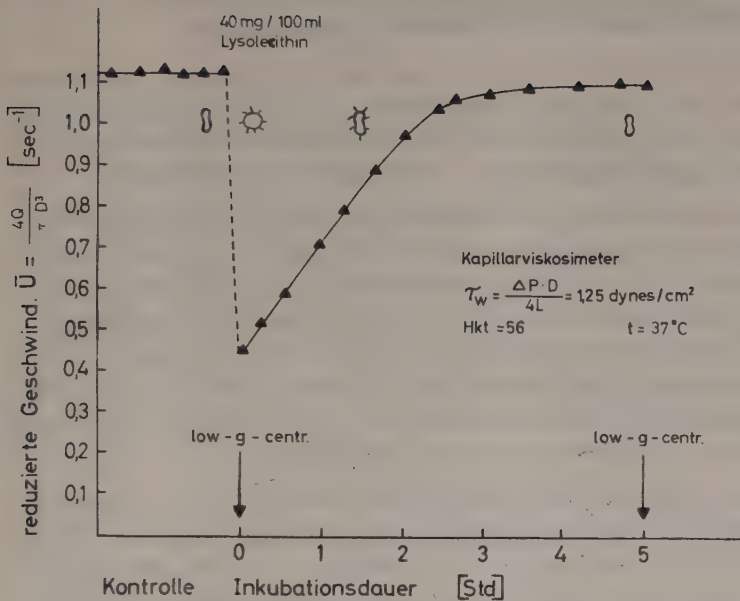


Abb. 4. Kontinuierliche Messung der Erythrozytenflexibilität im Kapillärviskosimeter bei einer Schubspannung von 1.25 dyn/cm^2 . Nach Zugabe von 40 mg Lysolecithin/100 ml Serum fällt die mittlere Strömungsgeschwindigkeit $\bar{U} = \frac{4Q}{\pi \cdot D^3} \text{ sec}^{-1}$ um die Hälfte ab; mit zunehmender Inkubationsdauer regeneriert sich das strömungsmechanische Verhalten der Erythrozytensuspension jedoch wieder und nähert sich nach etwa 3 Stunden asymptotisch dem Ausgangswert. Die Pfeile deuten an, zu welchen Zeiten die Messungen in der low-g-Zentrifuge stattfinden.

3. Erythrozytenflexibilität bei Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz.

Die Retentionswerte Kreatinin und Harnstoff wurden bei Patienten, die mit einer Niereninsuffizienz ins Dialyseprogramm aufgenommen waren, im venösen Blut bestimmt. Auffallend war ein kleiner Hämatokritwert, der im Mittel um 29 % betrug.

Die mit der Jasse'schen Reaktion gemessenen Kreatininwerte lagen zwischen 8,8 mg/100 ml und 19,0 mg/100 ml (Mittelwert: 10,8 mg/100 ml). Der Serum-Harnstoffspiegel schwankte von 154 mg/100 ml bis 264 mg/100 ml (Mittelwert: 179 mg/100 ml). Für die hier angewandten Methoden sind die Normalwerte für Kreatinin bis 1,1 mg/100 ml und für Harnstoff bis 45 mg/100 ml. Die Erythrozytenflexibilität wurde in einer zweiten Blutprobe, wie unter "Methode" beschrieben, bestimmt.

Die Wanderungsgeschwindigkeiten der Erythrozyten, die von den Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz stammten, betrug 38 ± 6.8 E. Sie ist damit um 18 % geringer als bei den gesunden Versuchspersonen. Der Unterschied ist signifikant (p.0.05). In der Abb. 2 ist dieser Wert zum Vergleich mit den Blutproben von gesunden Versuchspersonen und verschiedenen anderen Patientengruppen dargestellt. Man sieht, daß alle Patienten eine geringere Fließfähigkeit ihrer Blutproben aufweisen. Die statistische Auswertung zeigt, daß mit Ausnahme der Patienten mit einem Diabetes mellitus oder mit einer therapierten Hypertriglyceridämie, die Erythrozyten aller anderen Patientengruppen eine signifikant schlechtere Fließfähigkeit aufweisen, als die roten Blutkörperchen gesunder Versuchspersonen:

Patientengruppe	t-Wert	Freiheitsgrade	p
Niereninsuffizienz	2,515	22	≤ 0.05
Diabetes mellitus	2,013	22	> 0.05
Diabetes mellitus+ Hypertriglycerid- ämie	3.777	15	≤ 0.01
Hypercholesterin- ämie	2,078	22	≤ 0.05
Hypertriglycerid- ämie	4.378	20	≤ 0.001
therapierte Hyper- lipämie	1.843	16	> 0.05

Tabelle 3. Erythrozyten und Serum chronisch Nieren-
insuffizienter.

N	A1	A2	B1	B2	C1	C2	K	H
1	35,5	28	19,5	37	43	43	10,8	172
2	31	26	8	39	48	38	9,6	182
3	31	19	15,5	46,5	41	41	10,4	184
4	44,5	30	11	41	38	27	11,2	170
5	48	40	18	25	43	36	11,8	168
6	46	36	12	35	54	25	11,8	194
7	40	24	15,5	26	37	37	9,0	164
8	49	30	14	18	42	40	10,0	180
9	30	23,5	16,5	31	44	31	9,6	174
10	32	29	14,5	34	48	26	10,2	154
11	38	19	13	37	40	36	19,0	186
12	30	18	4	28	36	30,5	8,6	172
13	39	25,5	11	27	46	39	8,8	244
14	38	24	16	29	41	39	10,8	162
$\bar{x}$	38,0	27,2	15,6	32,4	42,9	33,2	10,8	179
SD	6,57	6,32	4,08	7,51	4,87	5,90		

K = Kreatinin
in mg %

H = Harnstoff
in mg %

Die Ergebnisse der übrigen Testansätze A2 bis C2 für die Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz sind aus Tabelle 3 zu ersehen.

4. Erythrozytenflexibilität bei Patienten mit einer Diabetes mellitus-Erkrankung.

In der Diabetes-Sprechstunde der Medizinischen Universitäts-Poliklinik wurde morgens bei ambulanten Patienten der Nüchternblutzucker bestimmt. Die Blutzuckerspiegel schwankten bei den verschiedenen Patienten zwischen 106 mg/100 ml und 330 mg/100 ml (Mittelwert 153 mg/100 ml). Gleichzeitig wurden im Vollblut der Triglyceridspiegel und der Cholesterinspiegel gemessen. Die Triglyceridwerte schwankten zwischen 85 mg/100 ml und 455 mg/100 ml (Mittelwert 187 mg/100 ml). Die Cholesterinwerte zwischen 150 mg/100 ml und 295 mg/100 ml (Mittelwert: 227 mg/100 ml).

In dieser Patientengruppe wurden 14 Probanden untersucht. Die Meßwerte sind in Tabelle 4 aufgeführt.

5. Erythrozytenflexibilität bei Diabetes mellitus-Patienten mit gleichzeitiger Hypertriglyceridämie.

Aus der Gruppe der Patienten mit einem Diabetes mellitus wurden sieben Versuchspersonen gesondert zusammengestellt, bei denen gleichzeitig neben der Blutzuckererhöhung ein Triglyceridspiegel von über 180 mg/100 ml nachweisbar war.

Der mittlere Nüchternblutzuckerwert betrug 172 mg/100 ml, der mittlere Triglyceridspiegel 254 mg/100 ml und der mittlere Cholesterinspiegel 236 mg/100 ml.

Die Absolutwerte, der Mittelwert und die Standardabweichungen für Erythrozytenflexibilität, Blutzucker, Triglyceride und Cholesteringehalt des Blutplasmas sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

Ein Befund, der diese Patienten von anderen Versuchsgruppen unterscheidet, ist in Abb. 5 graphisch dargestellt. Und zwar wurden die Seren verschiedener Probanden mit O-Erythrozyten (Standarderythrozyten) eines einzigen gesunden Spenders getestet. Normalerweise zeigt sich kein signifikanter Unterschied der

Tabelle 4. Erythrozyten und Serum diabetischer Patienten.

N	BZ	TG	CH	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	108	85	190	46	38	18,5	34,5	47	31
2	146	180	200	39	24,5	22	38,5	41	11
3	132	455	260	36	29	24	35,5	45	14
4	106	164	185	40,5	33,5	14,5	27,5	38	16
5	140	98	195	44	39	13,5	27,5	40	20
6	330	220	295	38	36	24	40	43	7
7	116	90	210	40	28,5	16	40,5	35	7
8	176	150	245	48	37	20	41,5	31,5	6
9	160	169	270	49,5	41	6	23,5	33	24
10	138	85	230	48,5	34	7	29,5	41	14
11	140	206	285	33,5	30	14	34	35	9
12	126	271	250	34	20,5	7	26	37	15
13	132	227	150	40	31,5	12	26	42	16
14	196	220	212	30,5	22	19,5	25,5	36	9
$\bar{x}$	153	187	227	40,5	31,8	15,6	32,1	38,9	14,2
SD				5,9	6,3	5,6	6,5	4,6	7,1

BZ = Blutzuckerspiegel

TG = Triglyceridspiegel

CH = Cholesterinspiegel

Tabelle 5. Erythrozyten-Verhalten im Serum diabetischer Patienten, die gleichzeitig eine Hypertriglyceridämie bei der Untersuchung boten.

N	BZ	TG	CH	A1	A2	B1	B2	C1	C2
2	146	181	200	39	24,5	22	38,5	41	11
3	132	455	260	36	29	24	35,5	45	14
6	330	220	295	38,8	36	24	40	43	7
11	140	206	285	33,5	30	14	34	35	9
12	126	271	250	34	20,5	7	26	37	15
13	132	227	150	40	31,5	12	26	42	16
14	196	220	212	30,5	22	19,5	25,5	36	9
$\bar{x}$	172	254	236	35,9	27,6	17,5	32,2	39,9	11,6
SD				3,17	5,11	3,7	5,7	3,8	3,4

BZ = Nüchternblutzuckerspiegel

TG = Triglyceridspiegel

CH = Cholesterinspiegel

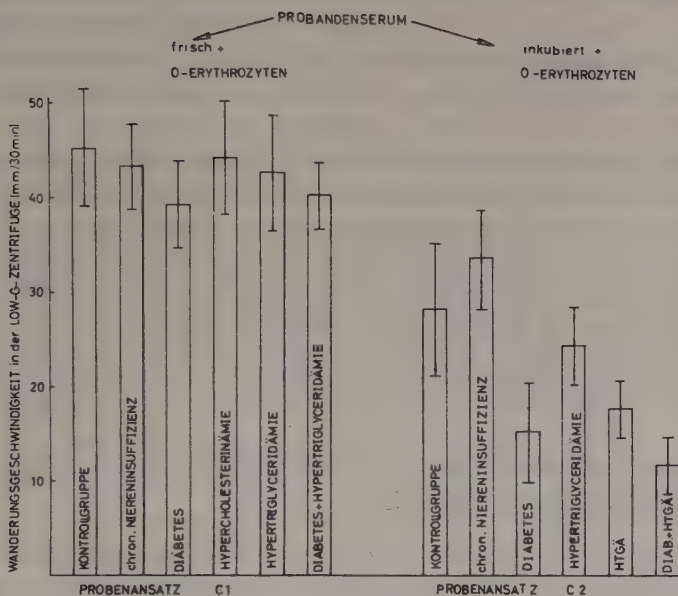


Abb. 5. Prüfung verschiedener Patientenserum mit einer Standard-Erythrozytenpopulation der Blutgruppe O. In den frisch belassenen Seren der Versuchspersonenkollektive zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Fließverhalten der Suspensionen. Inkubation der Seren für 5 Std. bei 37°C führt zu einem signifikanten Abfall der Fließgeschwindigkeit von frisch hinzugefügten Erythrozyten. Dieser Effekt ist besonders bei den Seren von Patienten mit einem Diabetes mellitus signifikant.

Wanderungsgeschwindigkeiten dieser Standarderythrozyten in den frisch belassenen Seren der verschiedenen Probanden (C1). Werden die Seren aber 5 Std. bei 37°C inkubiert (C2), so bekommen sie Eigenschaften, die die Form- und Verformbarkeit der Standarderythrozyten in sehr unterschiedlichem Ausmaß einschränken. (Nach den auf S.5 gemachten Vorbemerkungen kann man sagen, daß durch die Inkubation der Lysolecithingehalt der einzelnen Seren unterschiedlich stark ansteigt. Die unterschiedliche enzymatische Aktivität dürfte dabei eine wesentliche Rolle spielen.) Am deutlichsten ist dies bei den Patienten mit Diabetes mellitus und gleichzeitiger Triglyceriderhöhung. Der Unterschied ~~von~~ im Testansatz C2 von Diabetikern zum Kontrollkollektiv ist nicht signifikant, bei Diabetikern mit gleichzeitiger Triglyceriderhöhung jedoch deutlich signifikant ($p=0.01$).

6. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlipämikern mit isolierter Cholesterinspiegelerhöhung.

Grundsätzlich wird zwischen einer primären und sekundären Hyperlipoproteinämie unterschieden. Bei der sekundären Form handelt es sich um eine Erhöhung der Blutfette aufgrund einer auslösenden Grundkrankheit, z.B. Diabetes mellitus, Gicht, Hyperthyreose, Pankreatitis, Alkoholismus etc; bei der primären Form handelt es sich um ein eigenständiges Krankheitsbild, das durch eine Zunahme der Lipoproteine im Blut charakterisiert ist. Die sekundäre Form der Hyperlipidämie ist in den Diabetes mellitus-Untersuchungen gleichzeitig miterfaßt.

In den folgenden drei Untersuchungsgruppen werden ausschließlich Patienten mit einer primären Erhöhung der Lipoproteine untersucht. Eine Einteilung nach den fünf Diagnosegruppen von Frederickson (1967) konnte nicht vorgenommen werden, da fast ausschließlich Typ IV (Hyperpräbetalipoproteinämie)-Erkrankungen vorlagen.

Diese Untersuchung teilt die Patientengruppen daher nur nach der Höhe des Plasmacholesterin- und Plasmatriglyceridspiegels ein.

In der ersten Gruppe der Hyperlipämiker wurde das Blut derjenigen Patienten untersucht, die einen Plasmacholesterinspiegel von über 280 mg/100 ml aufwiesen. Der durchschnittliche Plasmachol-

esterinspiegel in dieser Patientengruppe, die 14 Versuchspersonen umfaßt, lag bei 380 mg/100 ml. Der Triglyceridspiegel bestimmte sich zu 137 mg/100 ml.

Die Einzelwerte für diese Patientengruppe sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

7. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlipämikern mit kombinierter Cholesterin- und Triglyceriderhöhung im Serum.

Diese zweite Gruppe der Hyperlipidämiepatienten bestand aus zwölf Probanden mit einer Triglyceriderhöhung von über 180 mg/100 ml und einer gleichzeitigen Cholesterinspiegelerhöhung von über 280 mg/100 ml. Als Mittelwerte errechneten sich für die Plasma-Triglyceride 469 mg/100 ml und für das Plasma-Cholesterin 387 mg/100 ml.

Die Einzelwerte für diese Patientengruppe sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

In dieser Patientengruppe ist als auffälliger Befund die Testreihe B1/B2 hervorzuheben, bei der das Verhalten der Spendererythrozyten in einem lysolecithinhaltigen Standardserum geprüft wurde. Während bei Erythrozyten von gesunden Versuchspersonen und allen übrigen untersuchten Patienten durch das lysolecithinhaltige Serum eine ausgeprägte Verschlechterung der Fließeigenschaften zu sehen war (B1), blieb dieser Effekt bei Patienten mit kombinierter Cholesterin- und Triglyceriderhöhung aus. Ihre Erythrozyten wiesen eine gegenüber dem Ausgangswert (A1) nicht signifikant erniedrigte Wanderungsgeschwindigkeit in der low-g-value-Zentrifuge auf. Auch durch 5-stündige Inkubation in dem lysolecithinhaltigen Serum (C2) änderte sich ihr Fließverhalten nicht signifikant gegenüber dem Kontrollwert. In der Abbildung 6 ist dieses Verhalten der Erythrozyten von Patienten mit einer Hyperlipämie dem Verhalten von Erythrozyten den übrigen Versuchspersonen gegenübergestellt.

8. Erythrozytenflexibilität bei Hyperlipämikern ohne aktuelle Cholesterin- und Triglyceriderhöhung.

Die dritte Gruppe der Hyperlipidämiepatienten, die ebenfalls wie die beiden vorherigen in der Medizinischen Universitäts-

Tabelle 6. Erythrozyten und Serum von Hyperlipämikern
mit isolierter Cholesterinerhöhung.

N	TG	CH	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	152	295	37	28	34	31	34	10
2	138	290	29	32	15	26	36	23
3	125	375	48	32	15	26	57	25
4	145	445	41	44	19	38	48	18
5	101	410	36	25	27	24	49	15
6	160	415	26	16	12	26	41	18
7	111	430	44	32	31	45	51	45
8	121	400	35	24	23	39	51	39
9	151	470	39	36	2	22	53	23
10	167	410	43	35	7	32	45	27
11	136	295	47	34	13	41	40	30
12	175	410	42	44	25	42	42	12
13	124	380	46	36	35	43	31	23
14	115	295	48	29	20	37	36	28
$\bar{x}$	137	380	40,1	31,9	19,8	33,7	43,9	24,0
SD			6,8	7,4	7,5	7,9	7,9	7,6

Tabelle 7. Erythrozytenverhalten bei Hyperlipämikern.
mit kombinierter Cholesterin- und Triglycerid-
erhöhung.

N	CH	TG	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	290	235	36	28	11	30	39	4
2	850	650	26	37	33	21	36	23
3	290	420	36	31	36	24	47	13
4	280	324	40	38	30	31	48	14
5	375	285	35	23	34	24	42	12
6	450	618	31	14	29	36	43	11
7	290	250	33	15	17	33	49	17
8	475	645	32	26	13	30	47	22
9	280	558	42	34	23	41	55	16
10	430	748	30	31	32	29	31	9
11	295	357	32	41	38,5	49	32	13
12	410	720	37	26	18	35	40	17
$\bar{x}$	387	469	34,2	28,7	26,2	31,9	42,4	17,6
SD			4,4	8,5	9,1	7,8	7,2	4,2

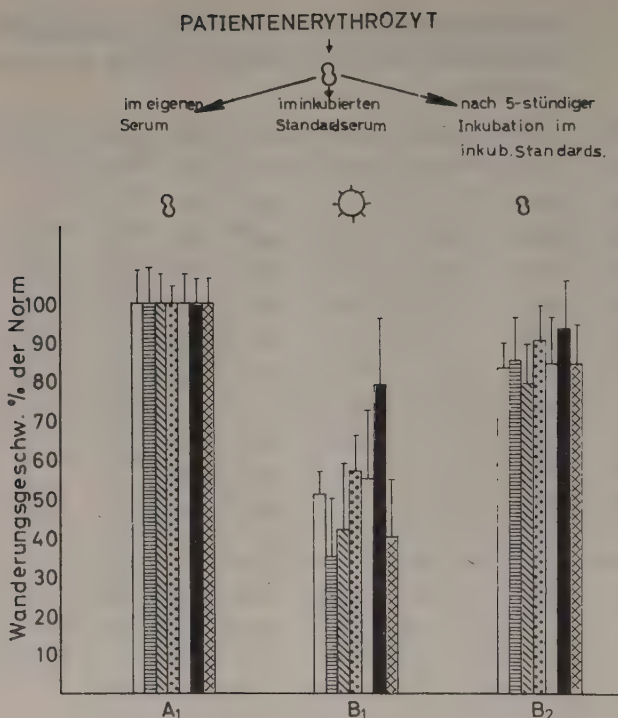


Abb. 6. Die Wanderungsgeschwindigkeit im Ausgangsversuch (A₁) wird 100 % gesetzt. In jedem Versuchspersonenkollektiv wird die Fließgeschwindigkeit in den Versuchen B₁ und B₂ in Prozent zum Ausgangsversuch angegeben.

□ = Kontrollgruppe
 ▨ = chronisches Nierenversagen
 ▩ = Blutzuckererkrankung
 ▩▩ = Blutzuckererkrankung mit Erhöhung der Triglyceride
 | | = Cholesterinspiegelerhöhung bei Hyperlipämie
 ■ = Triglyceridspiegelerhöhung bei Hyperlipämie
 ▨▨ = behandelte Hyperlipämiker ohne aktuelle pathologische Blutfettspiegelerhöhung

Es ist auffallend, daß das lysolecithinhaltige Standardserum die Flexibilität der Erythrozyten von Patienten mit erhöhtem Plasmatriglyceridspiegel im Gegensatz zu allen anderen Versuchsgruppen nicht signifikant reduziert.

Poliklinik Marburg in Behandlung waren, hatten am Tage der Untersuchung einen im Normalbereich liegenden Plasmatriglycerid- und Plasmacholesterinspiegel. Behandelt wurden diese Patienten erfolgreich entweder nur mit einer Diabetes-Diät oder zusätzlicher Clofibrattherapie.

Es wurde ein mittlerer Plasmatriglyceridspiegel von 118 mg/100 ml und ein mittlerer Cholesterinspiegel von 260 mg/100 ml gemessen. Die Versuchsgruppe umfaßte 8 Probanden.

Die Einzelmeßwerte sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Die Untersuchung der Erythrozyten in lysolecithinhaltigem Serum bei diesen erfolgreich therapierten Hyperlipämikern zeigt kein von den übrigen Patientengruppen abweichendes Verhalten. Ebenso blieb die Serumaustestung mit den Standarderythrozyten gegenüber den Vergleichsgruppen unauffällig.

Tabelle 8. Erythrozytenverhalten bei Hyperlipämikern ohne
aktuelle Cholesterin- oder Triglyceriderhöhung.

N	CH	TG	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	270	125	37	30	14	22	34	8
2	225	99	34	24	21	32	49	8
3	270	142	45	20	15	33	46	22
4	275	106	48	39	16	41,5	44	31,5
5	260	110	43	34	14	36	46	31
6	240	144	42	39	9	41	47	33
7	270	99	34	21	14	26	49	28
8	270	120	37	27	24	36	34	23
$\bar{x}$	260	118	40,0	29,3	15,9	33,4	43,6	23,2
SD			5,2	7,5	4,6	6,8	6,2	5,9

Tabelle 9. Zusammenstellung der Mittelwerte.

D	Z	TG	CH	Dq	A1	A2	B1	B2	C1	C2
N	14			0,325	46,6	35,9	23,8	38,5	45,2	28
cNJ	14			0,305	38,0	27,2	15,6	32,4	42,9	33,2
Dm	14	187	227	0,329	40,5	31,8	15,6	32,1	38,9	14,9
D+T	7	254	236	0,327	35,9	27,6	17,5	32,2	39,9	11,6
HCh	14	137	380	0,318	40,1	31,9	19,8	33,7	43,9	24,0
HTG	12	469	387	0,321	34,2	28,7	26,2	31,9	42,4	17,6
HL	8	118	260	0,311	40,0	29,3	15,9	33,4	43,6	23,2

D = Diagnosegruppe

N = Normalpersonen

cNJ = Chronische Niereninsuffizienz

Dm = Diabetes mellitus

D+T = Diabetes mellitus + Hypertriglyceridämie (BZ = 172 mg%)

HCh = Hypercholesterinämie

HTG = Hypertriglyceridämie

HL = Diagnose einer Hyperlipämie ohne aktuelle Blutfettwerterhöhung

Z = Anzahl der Versuchspersonen

TG = Triglyceridspiegel

CH = Cholesterinspiegel

Dq = Dichtequotient aus Hb_{20} und EV

Tabelle 10. Laufgeschwindigkeit der roten Zellen ausgedrückt in % bezogen auf den jeweiligen Ausgangsversuch in der Reihe A1.

Die Laufgeschwindigkeit der Fremderythrozyten im inkubierten Patientenplasma in C2 ist auf C1 bezogen.

	A1	A2	B1	B2	C1	C2
Kontrolle	100	77	51	83	99	60
chronische Nieren- insuffizienz	100	72	41	85	113	77
Diabetes mellitus	100	79	38	79	96	38
Diabetes mit Trigly- cerider- höhung	100	77	49	90	111	29
Triglycerid- erhöhung	100	84	77	93	124	42
therapierte Triglycerid- erhöhung	100	73	40	84	109	53
Cholesterin- erhöhung	100	80	49	84	109	55

V. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

1. Erythrozytenflexibilität im Blut der untersuchten Kontroll- bzw. Patientengruppen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Erythrozytenflexibilität mit einer im Bereich niedriger Scherkräfte zuverlässig arbeitenden Methode geprüft. Als Blutspender dienten Studenten und Patienten der Medizinischen Poliklinik Marburg. Unter den in ambulanter Betreuung stehenden Patienten wurden 6 Fallgruppen ausgewählt, bei denen aus klinischer Erfahrung gehäuft Durchblutungsstörungen und/oder Erythrozytenanomalien auftreten. Wenn man die Flexibilität der Erythrozyten unter Standardbedingungen, d.h. bei konstantem Hämatokrit von 33 %, konstanter Temperatur von 37°C und konstantem pH von 7,4 $\pm$ 0.4 prüft, so lassen sich drei Gruppen voneinander trennen:

1. Die Kontrollgruppe der Studenten mit der besten Erythrozytenflexibilität. Von diesen nicht signifikant verschieden sind die Werte von Erythrozyten der Patienten mit einem Diabetes mellitus oder einer erfolgreich therapierten Hyperlipämie.
2. Die Gruppe der Patienten, die eine chronische Niereninsuffizienz oder eine Hypercholesterolämie haben, und deren Erythrozyten eine gering reduzierte Flexibilität aufweisen.
3. Die Patienten mit einem Diabetes mellitus mit gleichzeitiger Triglyceriderhöhung und die Patienten mit einer kombinierten Hypercholesterin- und Hypertriglyceridämie: ihre Erythrozyten haben eine deutlich eingeschränkte Flexibilität ($p=0.001$).

Setzt man das Normalkollektiv = 100 %, so erreichen die Erythrozyten bei der Hypertriglyceridämie 73 % und beim Diabetes mit Hypertriglyceridämie 77 % des Kontrollwertes (Tab.9 und 10) und weisen damit eine signifikant geringere Flexibilität auf als die Kontrollgruppe. Es liegt die Vermutung nahe, daß der Triglyceridspiegel oder andere im Plasma erhöhte Substrate, die gleichzeitig mit der Triglyceriderhöhung auftreten, zu einer Flexibilitätseinschränkung der roten Blutzellen führen. Eine direkte Korrelation zwischen dem Triglyceridspiegel und der Flexibilität ließ sich in den einzelnen Versuchen nicht nachweisen, was darauf hinweist, daß neben den Triglyceriden noch

andere Faktoren für die Flexibilitätseinschränkung der roten Blutzellen verantwortlich zu machen sein dürften.

Der Befund, daß die Erythrozyten von Diabetikern keine signifikant geringere Flexibilität haben als diejenigen von gesunden Versuchspersonen, scheint zunächst im Widerspruch zu den Ergebnissen von Ditzel und Moinet zu stehen. Diese Autoren fanden eine erhöhte Blutviskosität, die sie auf die erhöhte Aggregationstendenz der Erythrozyten beim Diabetes mellitus bezogen. Da mit der Methode der low-g-Zentrifugation, die in der hier vorliegenden Arbeit angewandt wurde, keine Erythrozytenaggregation gemessen wird, kann man den Widerspruch zwischen Ditzels und den in dieser Arbeit geschilderten Ergebnissen damit erklären, daß beim Diabetes mellitus die Flexibilität der Einzelerythrozyten normal ist, aber möglicherweise eine erhöhte Aggregationstendenz die Blutviskosität in bestimmten Scherbereichen heraufsetzt.

2. Wirkung von inkubiertem Serum, bzw. Lysolecithin auf die Erythrozytenform und -verformbarkeit.

Piper, Obladen und Zöller haben 1972 die Auswirkungen der Plasmainkubation auf die Erythrozytensedimentationsrate beschrieben. In Anlehnung an eine Methode von Bergenhem und Fahraeus haben sie Citratplasma mit einer nach akutem Myocardinfarkt erhöhten BSG bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde es nach verschiedenen Intervallen auf Lysolecithinkonzentration und seinen Effekt auf frisch hinzugefügte Erythrozyten hin analysiert. Sie fanden, daß der Lysolecithingehalt während der Inkubation anstieg und daß frisch hinzugefügte Erythrozyten dadurch zu stechapfelförmigen Zellen umgewandelt wurden. Da diese stechapfelförmigen Erythrozyten nicht mehr aggregieren konnten, trat als Folgeerscheinung eine Reduktion (scheinbare Normalisierung) der BSG auf. Mit dieser Methode war es daher möglich, halbquantitativ die Stechapfelbildung menschlicher Erythrozyten zu verfolgen.

Die hier vorliegenden Untersuchungen der Erythrozytenflexibilität und der mikroskopischen Beobachtung der Erythrozytenform zeigen, daß die beobachtete Stechapfelbildung mit einer Einschränkung der Erythrozytenflexibilität verbunden ist. Es wurde

mit der Methode der low-g-Zentrifugation eine Reduktion der Flexibilität um etwa die Hälfte gefunden. Dieser Befund ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Braasch, der 1968 erstmalig die durch stechapfelförmige Erythrozyten hervorgerufene Viskositätserhöhung des Blutes gemessen hat. Damals wurden Galle und freie Fettsäuren als stechapfelbildende Substanzen verwandt, in den in dieser Arbeit vorliegenden Versuchen wurde inkubiertes Serum genommen. Die Reaktion der Erythrozyten ist in jedem Fall die gleiche: Stechapfelbildung und Flexibilitätsverminderung.

Eine Ausnahme von dieser Reaktion der Erythrozyten bilden einzig die roten Blutkörperchen von Patienten mit einer Hyperlipämie. Hier zeigt sich eine um nur 23 % verminderte Erythrozytenflexibilität, während dasselbe inkubierte Serum mit demselben Lysolecithingehalt bei den Erythrozyten aller anderen Versuchspersonen zu einer Verringerung der Flexibilität auf 40 - 60 % führt. Dieser Befund bedarf der Sicherung mit anderen Methoden, kann aber möglicherweise ein Hinweis darauf sein, daß bei dieser Patientengruppe ein abweichendes Verhalten der Erythrozyten gegenüber Lysolecithin vorliegt.

3. Reaktion der Erythrozyten auf verlängerten Kontakt mit inkubiertem Serum, bzw. Lysolecithin.

In den obigen Versuchen wurde gezeigt, daß menschliche Erythrozyten das durch Seruminkubation freigesetzte Lysolecithin besser tolerieren können, wenn sie mit dem inkubierten Serum zusammen weiter inkubiert werden. Es ist zu beobachten, daß die anfangs bei Lysolecithinkontakt stechapfelförmig gewordenen Erythrozyten wieder eine bikonkave Gestalt annehmen. Dieses Phänomen wurde 1972 gleichzeitig von mehreren Autoren beschrieben (Hoffman, Piper u. Mitarb., Rogausch). Piper und Mitarb. haben außerdem mit der im vorigen Abschnitt beschriebenen Methode diesen Formwandel der Erythrozyten meßtechnisch zu erfassen versucht.

Für die Mikrozirkulation dürften jedoch neben diesen morphologischen Veränderungen besonders die mechanischen Eigenschaften von Interesse sein. Es konnte gezeigt werden, daß sich die Erythrozytenflexibilität bei längerem Kontakt mit Lysolecithin

nicht nur nicht verschlechtert, sondern daß im Gegenteil eine spontane Normalisierung auftritt (Rogausch, 1972). Dies ist ein temperaturabhängiger und vom intrazellulären ATP-Gehalt bestimmter aktiver Vorgang, den man infolgedessen als Adaptation der Erythrozyten an Lysolecithin bezeichnen kann (Rogausch, 1975).

In den in dieser Arbeit vorliegenden Untersuchungen nahm die Fließfähigkeit der Erythrozyten in der Regel bei gesunden Versuchspersonen und bei den meisten Patientengruppen nach fünfständigem Kontakt mit dem lysolecithinhaltigen Serum wieder auf durchschnittlich 83 % des Ausgangswertes zu. Bei den Erythrozyten von Patienten, die im Serum einen erhöhten Triglyceridspiegel hatten, sowie bei den Diabetikern mit erhöhtem Triglyceridspiegel, wurde sogar ein Anstieg auf 93 % des Ausgangswertes gefunden. Das hier wie im vorigen Abschnitt beobachtete, von allen übrigen Versuchspersonengruppierungen abweichende Verhalten von Patienten mit einer Hypertriglyceridämie soll im folgenden Abschnitt im Zusammenhang mit den bei diesen Patienten gehäuft auftretenden Durchblutungsstörungen diskutiert werden.

4. Diskussion der Befunde im Hinblick auf das Fließverhalten der Erythrozyten in der Mikrozirkulation.

In den letzten 20 Jahren sind zahlreiche Untersuchungen veröffentlicht worden, in denen die Blutströmung in der Mikrozirkulation, d.h. in dem Gefäßgebiet zwischen terminaler Arteriole und Sammelvenole untersucht worden ist. Insbesondere ist der Frage nachgegangen worden, in wieweit eine Erythrozytenaggregation, d.h. das von Knisely beschriebene "sludge-phaenomen", die Mikrozirkulation beeinträchtigen kann. Erst in den letzten 5 - 10 Jahren ist klar geworden, daß unter den Strömungsbedingungen des Kreislaufs weniger die Erythrozytenaggregation als die normale bzw. verminderte mechanische Verformbarkeit der roten Blutkörperchen für die Blutströmung in der terminalen Strombahn von Bedeutung sein dürfte.

Nach Übereinstimmung der meisten Autoren stellen die postkapillären Venolen das Gefäßgebiet dar, in dem die geringsten

Scherkräfte im Kreislauf auftreten. Die mittlere Schubspannung beträgt dort etwa 1 dyn/cm^2 . Untersucht man Blut im Kapillarrisosimeter bei dieser Schubspannung, so sieht man, daß sich die Erythrozytenaggregation in diesem Kräftebereich nicht wesentlich bemerkbar macht. Eine Umwandlung von normal flexiblen Erythrozyten zu geringer flexiblen, stechapfelförmigen Zellen (z.B. durch 40 mg Lysolecithin/100 ml Serum) führt ^{dagegen} zu einer mehr als zehnfachen Erhöhung der Blutviskosität (Rogauch, 1975). Daraus kann man schließen, daß wohl kaum die Aggregation als vielmehr die Flexibilität des einzelnen Erythrozyten eine besondere Bedeutung für die Mikrozirkulation haben dürfte (Braasch, 1966).

Diese Aussage wird auch durch Viskositätsmessungen an isoliert perfundierten Organen belegt. Einerseits wiesen Djojogugito und Mitarb. darauf hin, daß die Aggregation der Erythrozyten in der Prästase und die damit verbundene Viskositätserrhöhung im perfundierten Gefäßbett unter physiologischen Bedingungen bei weitem nicht so ausgeprägt sind wie im in vitro-Viskosimeter. Andererseits konnte die durch vermindert flexible Erythrozyten-bedingte Viskositätserrhöhung auch im Gefäßbett selbst bei normalem Blut- bzw. Perfusionsdruck und erst recht bei verringertem Druck nachgewiesen werden (Rogauch, 1975). Mit dieser Aussage bekommen die in dieser Arbeit untersuchten Veränderungen der Erythrozytenflexibilität kreislaufphysiologische und klinische Bedeutung.

Mit der in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Methodik zur Flexibilitätssmessung der Erythrozyten konnte bei den Patientengruppen, die eine Hypertriglyceridämie bzw. einen Diabetes mellitus mit gleichzeitiger Hypertriglyceridämie aufwiesen, eine signifikant verschlechterte Erythrozytenflexibilität nachgewiesen werden. Da bei diesen Patienten gehäuft Durchblutungsstörungen z.B. auch im Abdominalbereich (J. Schneider, 1974) auftreten, kann man daran denken, daß es sich hierbei neben Veränderungen der großen Gefäße auch um Mikrozirkulationsstörungen aufgrund einer verminderten Erythrozytenflexibilität handeln könnte.

Neben ihrer verminderten Flexibilität weisen die Erythrozyten von Hyperlipidämiepatienten zusätzlich ein von der Kontroll-

gruppe abweichendes Verhalten gegenüber von Lysolecithin auf. Während normale Erythrozyten bei akutem Kontakt mit Lysolecithin mit sofortiger Stechapfelbildung und ausgeprägtem Flexibilitätsverlust reagierten, ließen die Erythrozyten von Hyperlipämikern diese Reaktion vermissen. Sie reagierten auf Lysolecithin nur mit einer geringen Flexibilitätsverminderung.

Die Rolle des Lysolecithins im Zusammenhang mit einer Hyperlipidämie ist bisher vorwiegend im Rahmen des Zieve-Syndroms untersucht worden. Hypothetisch kann man sich die Wirkung des Lysolecithins auf die Erythrozyten folgendermaßen vorstellen: bei akutem Kontakt menschlicher Erythrozyten mit Lysolecithin kommt es zur Stechapfelbildung. Dies wird nach Hoffman (1972) mit einer ungleichen Verteilung des Lysolecithins zwischen Zelle und Plasma erklärt. Diffundiert das Lysolecithin bis zum Gleichgewicht in die Zelle hinein, bildet sich die bikonkave Form des Erythrozyten wieder aus. Diese Diffusionshypothese stellt zwar eine Vereinfachung der komplexen Reaktion menschlicher Erythrozyten auf Lysolecithin dar (insbesondere fehlt jeder Hinweis auf eine aktive Komponente, die das geschilderte Phänomen als Adaptation deuten läßt), soll aber für die Diskussion an dieser Stelle genügen.

Wenn man diese Hypothese auf das Verhalten von Erythrozyten, die man bei verschiedenen Hyperlipidämien findet, überträgt, so könnte man folgende Arbeitshypothese aufstellen: indem man annimmt, daß die untersuchten Patienten einen erhöhten Lysolecithinspiegel im Plasma aufweisen, muß man auch in den Erythrozyten einen erhöhten Lysolecithingehalt annehmen. Bringt man diese Erythrozyten in ein Medium mit erhöhtem Lysolecithingehalt, wie es in den obigen Versuchen im Testansatz B1 bei den einzelnen Versuchsgruppen beschrieben worden ist, so wird die Stechapfelbildung bei den roten Blutkörperchen von Hyperlipämikern im Gegensatz zu normalen Erythrozyten ausbleiben, denn es besteht ja kein Ungleichgewicht in der Lysolecithinverteilung zwischen Zelle und Plasma. Entsprechend zur fehlenden Stechapfelbildung wird auch die Flexibilitätsverringerung ausbleiben. Das ist in den obigen Versuchen gemessen worden. Die im vorigen Absatz beschriebene Diffusionshypothese läßt sich also gut auf das Verhalten von Hyperlipämikern anwenden, muß allerdings

aufgrund sehr unvollständiger Meßparameter (insbesondere was den Plasmalysolecithinspiegel betrifft) noch vollkommen ungesichert bleiben.

Nach der geschilderten Diffusionshypothese dürfen die Erythrozyten von Patienten mit einer Hyperlipidämie erst auf stark erhöhte Lysolecithinkonzentrationen im Plasma mit Stechapfelformbildung und akutem Flexibilitätsverlust reagieren. Da aber nachgewiesen werden konnte, daß Erythrozyten von einer bestimmten Höhe des Plasmalysolecithinspiegels an nicht mehr imstande sind, ihre Form und Flexibilität bei langzeitigem Kontakt mit Lysolecithin spontan zu normalisieren (Rogauch, 1975), könnte das bedeuten, daß bei diesen Krankheitsbildern der Hypertriglyceridämien mäßige Erhöhungen des Plasmalysolecithinspiegels auf die Flexibilität dieser Erythrozyten keinen Einfluß haben, starke Erhöhungen aber zum irreversiblen Flexibilitätsverlust führen. Hierin könnte man die Ursache für die in der Klinik zu beobachtenden Störungen im Sinne einer "Claudicatio intestinale" sehen, wo im Anschluß an fettreiche Mahlzeiten intestinale Durchblutungsstörungen beobachtet werden. Es ist durchaus vorstellbar, daß es bei dieser Symptomatik postprandial zum krisenhaften Anstieg derjenigen Substanzen im Plasma gekommen ist, die zu einer massiven Einschränkung der Erythrozytenflexibilität führen. Während "normale" Erythrozyten sich an eine derartige Belastung adaptieren können, ist es durchaus denkbar, daß die vorgeschädigten Erythrozyten der Hypertriglyceridämie-Patienten diese Fähigkeit verloren haben. Neben vaskulären Veränderungen wäre demnach eine derartige Symptomatik auch rheologisch begründet.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

An gesunden Versuchspersonen und an Patienten, die in der Marburger Medizinischen Poliklinik in ambulanter Behandlung waren, wurden Untersuchungen zur Erythrozytenflexibilität durchgeführt. Entsprechend den klinischen Diagnosen wurden folgende Patientengruppen gebildet: Chronische Niereninsuffizienz, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie. Die Erythrozytenflexibilität wurde durch Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen im Zentrifugalfeld bei niedrigen g-Zahlen gemessen. Eine signifikant verminderte Fließgeschwindigkeit hatten Erythrozyten von Patienten mit einer Erhöhung des Plasmatriglyceridspiegels. Dazu gehörten Teile der Patienten mit einer Hyperlipidämie und der Patienten mit einem Diabetes mellitus. Es ließ sich allerdings keine Proportionalität zwischen Plasmatriglyceridspiegel und Einschränkung der Erythrozytenflexibilität finden.

Als weitere Besonderheit der Erythrozyten von Patienten, die eine Hypertriglyceridämie hatten, wurde eine vom Kontrollkollektiv abweichende Reaktion auf Standard Dosen von Lysolecithin gefunden. In der Regel bestand die Reaktion darin, daß im Moment des Kontaktes bikonkaver Erythrozyten mit Lysolecithin als Stressor eine sofortige Stechapfelbildung und ein Flexibilitätsverlust eintrat und daß bei längerem Kontakt eine Adaptation an Lysolecithin mit Formnormalisierung und Flexibilitätsverbesserung zu beobachten war. Im Gegensatz dazu zeigten die Erythrozyten von Patienten mit einem erhöhten Plasmatriglyceridspiegel eine sehr viel schwächere Reaktion auf Lysolecithin. Dieser Befund wird so interpretiert, daß diese Zellen schon weitgehend an Lysolecithin adaptiert sind und infolgedessen durch gering erhöhte Dosen von Lysolecithin nicht so zu beeinflussen sind wie nicht adaptierte Zellen.

VII. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

- Bergenheim, B., Fahraeus, R.: Über spontane Hämolysinbildung im Blut, unter besonderer Berücksichtigung der Milz.
Z.ges.exp.Med. 97, 555-567 (1936)
- Bollinger, A., Butti, P., Barras, J.-P., Trachsler, H., Siegenthaler, W.: Red blood cell velocity in nailfold capillaries of man measured by a television microcopy technique.
Microvasc.Res. 7, 61-72 (1974)
- Braasch, D.: Verminderte Erythrozytenflexibilität (hervgerufen durch Barbiturate, Verbrennungen, Hypoxämien) und ihre Wirkung auf den Kapillarkreislauf.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 278, 130-140 (1963)
- Braasch, D.: Deformierung und Zerstörung von Erythrozyten durch Noradrenalin in normalen und hämorrhagischen Hunden.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 296, 143-147 (1967)
- Braasch, D.: Veränderung von Erythrozytenform und Blutviskosität durch Galle, freie Fettsäuren und Chlorpromazin.
Pflügers Arch.ges.Physiol. 300, 185-188 (1968)
- Braasch, D.: On the relation between erythrocyte deformability, cell shape and membrane surface tension.
Pflügers Arch. 313, 316-320 (1969)
- Braasch, D.: Red cell deformability and capillary blood flow.
Physiol.Rev. 51, 681-701 (1971)
- Braasch, D., Rogausch, H.: Deformability and migration speed of red cell centrifuged at low g-values.
Pflügers Arch. 323, 34-40 (1971)

- Branemark, P.I., Johnsson, I.: Determination of the velocity of corpuscles in blood capillaries in a flying spot device.
Biorheology 1, 143-146 (1963)
- Bucher, H.W.: Die Bedeutung der freien Plasmafettsäuren beim Myocardinfarkt.
Dtsch.med.Wschr. 99, 16 (1974)
- Carlsen, E., Comroe, J.H.: The rate of uptake of CO and nitric oxide by normal human erythrocytes and experimentally produced spherocytes.
J.gen.Physiol. 42, 83-107 (1958)
- Danon, D., Marikowsky, Y.: Determination of density distribution of red cell population.
J.Lab.clin.Med. 64, 668-674 (1964)
- Ditzel, J., Moinat, P.: Changes in serum proteins, lipoproteins, and protein-bound carbohydrates in relation to pathologic alterations in the microcirculation of diabetic subjects.
J.Lab.clin.Med. 54, 834 (1959)
- Djojogugito, A.M., Folkow, B., Öberg, B., White, S.: A comparison of blood viscosity measured in vitro and in a vascular bed.
Acta physiol.scand. 78, 70-84 (1970)
- Glomset, J.A.: The plasma lecithin-cholesterol acyltransferase reaction.
J.Lipid Res. 9, 155-167 (1968)
- Gregersen, M.I., Bryant, C.A., Hammerle, W.E., Shunichi, U., Chien, S.: Flow characteristics of human erythrocytes through polycarbonate sieves.
Science 157, 825-827 (1967)

- Guest, M.M.: Red blood cells: change in shape in capillaries.
Science 142, 1319-1326 (1963)
- Hoffman, J.F.: Quantitative study of factors which control
shape transformations of human red blood cells
of constant volume.
Nouv.Rev.franc.Hémat. 12, 771-774 (1972)
- Kwant, W.O., Seeman, Ph.: The displacement of membrane calcium
by a local anesthetic.
Biochim.biophys.Acta(Amst.) 193, 338-346 (1969)
- Leblond, P.: The discocyte-echinocyte transformation of the
human red cell: deformability characteristics.
Nouv.Rev.franc.Hémat. 12, 815-822 (1972)
- Murphy, J.R.: Erythrocyte metabolism III: Cell shape and the
location of cholesterol in the erythrocyte membrane.
J.Lab.clin.Med. 65, 756-774 (1965)
- Neerhout, R.C.: Erythrocyte stromal lipids in hyperlipemic
states.
J.Lab.clin.Med. 71, 448 (1968)
- Ponder, E.: Hemolysis and related phenomena.
New York: Grune & Stratton 1948.
- Rand, P., Burton, A.C.: Mechanical properties of the red cell
membrane.
Biophys.J. 4, 115 (1964)
- Rogausch, H.: Decreased erythrocyte deformability in cholestatic
jaundice.
Acta haemat.(Basel) 46, 211-220 (1971)
- Rogausch, H.: An adaptive reaction of human erythrocytes and
its significance for their deformability.
Bibl.anat.(Basel) 11, 128-132 (1972)

- Rogausch, H.: Influence of erythrocyte deformability on circulation.
Res.exp.Med. 160, 89-94 (1973)
- Rogausch, H.: Time-dependent reaction of human red cell deformability on spherizing agents.
Pflügers Arch. (in press) 1975
- Schneider, J.: Abdominelle Symptomatik bei Hyperlipoproteinämien.
Diagnostik 7, 370-373 (1974)
- Shohet, St.B.: Hemolysis and changes in erythrocyte membrane lipids.
New Engl.J.Med. 286, 577-644 (1972)
- Sirs, J.A.: The measurement of the hematocrit and flexibility of erythrocytes with a centrifuge.
Biorheology 5, 1-14 (1968)
- Teitel, P.: Le test de la filtrabilité érythrocytaire.
Nouv.Rev.franc.Hémat. 7, 195-214 (1967).

LEBENS LAUF

Am 13.3.1945 wurde ich in Bad Wildungen geboren.

In Dortmund bin ich bei meinen Eltern, dem Metzgermeister Walter Kronsbein und seiner Ehefrau Margarete, geb. Schindewolf aufgewachsen. Hier besuchte ich zunächst von 1951 bis 1956 die Volksschule und 1 Jahr lang die Realschule;

ab 1957 das Landschulheim Schloß Heessen, ein neusprachliches Gymnasium und anschließend die Ludwig-Thoma-Oberrealschule in Prien am Chiemsee, an der ich

1966 meine Reifeprüfung in mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig ablegte.
Im Wintersemester

1966/67 nahm ich mein Studium der Medizin in Marburg auf.

1967 legte ich hier die naturwissenschaftliche Vorprüfung,

1969 die ärztliche Vorprüfung und

1972 die ärztliche Prüfung ab.

Nach der Medizinalassistentenzeit wurde mir die Approbation als Arzt erteilt.

1974

Zur Zeit arbeite ich als Assistenzarzt im Psychiatrischen Krankenhaus in Gießen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dieter Braasch für die Anregung und wohlwollende Unterstützung, die zur Durchführung meiner Arbeit beigetragen und diese ermöglicht haben.

Herrn Dr. **Heiner** Rogausch danke ich für seine Unterstützung und Beratung sowie seine anregenden Diskussionen.

Danken möchte ich den Kollegen und Mitarbeitern der Medizinischen Klinik und Poliklinik, sowie den Mitarbeitern des Physiologischen Instituts für ihren Beitrag zu dieser Arbeit.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren
Professoren und Dozenten:

Abendroth, Amon, Arndt, Barthelmai, Beckmann, Berendes,
Bommer, Braasch, Brück, Buchholz, Castenholz, Daume, Deppe,
Dimroth, Dittrich, Dölle, Egbring, Engelhardt, Erhardt,
Exner, Friederich, Ganz, Goebell, Golenhofen, Graul,
Hamelmann, Hamm, Hardewig, Havemann, Hennessen, Hensel,
Hess, Heuser, Hildebrandt, Hohorst, Ihm, Jacob, Kaffarnik,
Karlson, Koch, Koransky, Korb, Krüpe, Kuni, Kühnel,
Linneweh, Ludwig, Lüdtke, Mahr, Mann, Martini, Massarrat,
Mattes, Meyer-Bertenrath, Müller, Nieth, Nöth, Nultsch,
Oehmig, Oepen, Petry, Pots, Prinz, Reim, Remschmidt, Riecken,
Rodeck, Rodenhäuser, Rohen, Rupec, Schiff, Schleyer, Schmid,
Schmitz-Moormann, Seidel, Sekeris, Siegert, Siess, Solcher,
Stockhausen, Straub, Strohmeyer, Stutte, Vogt, Voss, Walcher,
Wesemann, Wiegandt, Willenbockel, Zilliken.

